

Identifikasi Keragaman Khamir yang Diisolasi dari Tanah Kebun Biologi Wamena Kabupaten Jayawijaya, Propinsi Papua

Atit Kanti ✉ dan H.J.D. Latupapua

Balitbang Mikrobiologi, Puslitbang Biologi-LIPI, Bogor

ABSTRACT

The Identification of Yeasts Which Were Isolated from Soils in the Wamena Biological Garden, Jayawijaya Residence, Papua Province. The present study deals with the isolation and identification of yeasts isolated from soil samples in The Wamena Biological Garden, Papua. Microbial population in 11 samples were estimated by plate count method. The yeasts population were ranged from 30.0×10^2 until 16.5×10^6 cells/g soil. Fifteen isolates of yeasts were taxonomically studied. On the basis of morphological and physiological characteristics these isolates were belonging to two group namely ascomycetous-imperfect yeasts and basidiomycetous yeasts. Further, they were separated into three group. Out of 15 isolates, eleven isolates were included in group I and identified into genus level as *Cryptococcus*, three in group II as *Candida* and one isolate in group III identified into species level as *Cryptococcus albidus*. Type of sample sources appeared has no effect on yeasts diversity as shown by similar yeast isolate was observed isolated from different sources.

Key words : Ascomycetous-imperfect yeasts, basidiomycetous yeasts, The Wamena Biological Garden, Papua.

PENDAHULUAN

Kebun Biologi Wamena merupakan salah satu tapak konservasi *ex-situ* biota pegunungan untuk Kawasan Timur Indonesia. Tapak konservasi ini merupakan suatu tapak konservasi pertama di kawasan ini yang sedang dibangun oleh Puslitbang Biologi-LIPI. Komunitas mikroba yang terdapat dalam ekosistem tanah tersebut sangat menarik untuk dipelajari karena keunikan vegetasi yang dimilikinya serta adanya variasi ciri warna tanah yang tinggi. Jika dibandingkan dengan jamur dan bakteri, tampaknya

peranan khamir dalam siklus biogeokimia dianggap tidak begitu penting. Walaupun demikian, dalam beberapa penelitian telah terungkap bahwa khamir mempunyai peranan yang cukup penting dalam siklus rantai makanan.

Khamir adalah jamur bersel tunggal yang melakukan perkembang-biakan dengan tunas atau membelah. Berdasarkan jenis perkembangbiakannya khamir dapat dibagi menjadi tiga golongan besar yaitu: Ascomycetous, Basidiomycetous dan khamir imperfect. Khamir Ascomycetous melakukan perkembang-biakan seksual dengan membentuk ascospore, khamir

✉ Jl. Ir. H. Juanda No. 18 Bogor 16002, Tel 0251-321038, Fax 325854

Basidiomycetous dengan membentuk basidiospore, sedangkan khamir imperfect tidak melakukan perkembangbiakan seksual selama siklus hidupnya.

Wickerman (1951) adalah orang pertama yang mempelopori identifikasi khamir. Semenjak itu, pengetahuan tentang taksonomi khamir mengalami kemajuan yang pesat, seperti ditunjukkan dengan peningkatan jumlah marga dan spesies teridentifikasi dari dan sekitar 60 marga menjadi 100 marga dan 500 spesies menjadi 700 spesies (Kurtzman & Jack, 1998).

Khamir banyak ditemukan di alam dan sudah berhasil diisolasi dari berbagai macam substrat seperti makanan, minuman, bunga, serangga dan tanah. Akan tetapi selama ini pengungkapan keanekaragaman khamir di Indonesia hanya difokuskan pada beberapa jenis khamir yang berasal dari makanan fermentasi tradisional. Namun, telah diversitas khamir dan verifikasi karakteristik fisiologi khamir tanah, khususnya tanah Papua belum banyak dilaporkan, padahal beberapa penulis telah melaporkan tentang peran ekologi khamir dalam ekosistem tanah (Lachance & Starmer, 1998). Selain itu, khamir mampu menstimulasi hidrolisis senyawa organik yang berasal dari tumbuhan dan hewan sehingga dapat mempercepat proses daur ulang bahan organik dan nutrisi dalam tanah (Anna, 1990).

Beberapa genera khamir umumnya ditemukan dalam tanah yaitu *Candida* dan *Debaryomyces* (Cook, 1958). Keberadaannya biasanya berdampingan dengan bakteri dan fungi tanah. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengklarifikasi keberadaan khamir dalam berbagai jenis tanah yang berasal dari Kebun Biologi Wamena.

Kanti dan Latupapua

BAHAN DAN CARA KERJA

Pengambilan tanah

Sekitar 1000 g sampel tanah diambil dari kedalaman 0-15 cm secara acak dan berasal dari daerah perakaran. Sampel tanah kemudian dibagi dalam dua grup. Grup pertama disimpan dalam *cold box* untuk tetap menjaga kelembabannya, sisanya disimpan pada *polybag*. Tanah dari grup pertama pada umumnya digunakan untuk analisa biologi, sedangkan tanah dari grup kedua digunakan untuk analisa kimia. Sampel yang berasal dari Kebun Biologi Wamena terdiri dari 11 macam tanah yaitu : tp (tanah dengan partikel kapur), tm (tanah merah), tc (tanah coklat), tk (tanah kuning), tmk (tanah merah kuning), ta (tanah abu-abu), th (tanah hitam), H (didominasi tumbuhan-pohon wiep/*Grevillea papuana*), tpm (didominasi tumbuhan-pohon munika/*Pittosporum ramiflorum*), tse (didominasi tumbuhan-pohon seno/*Castanopsis accuminatissima*), td (didominasi tumbuhan perdu duaga/*Vaccinium varingaefolium*).

Isolat khamir dan media pemeliharaan

Lima belas isolat yang diisolasi dari tanah Kebun Biologi Wamena, Propinsi Papua dan 4 biak acuan : *Saccharomyces cerevisiae* LIPI MC 415, *Debaromyces hansenii*^T JCM 5912, *Rhodotorula minuta*^T TUA 0960 Y, *Candida catenulata*^T JCM 1604 digunakan pada penelitian ini. Untuk pemeliharaan biak ditumbuhkan pada media Yeast Malt Extract agar (YME) dan disimpan pada suhu 4° C (Kirsop & Doyle, 1991).

Isolasi khamir

Untuk isolasi khamir yang berasal dari tanah dan ekosistem sekitarnya di-

gunakan teknik pengkayaan media yang memakai media yeast nitrogen base dengan komposisi sebagai berikut : yeast extract 0.1%, malt extract 0.1%, glukosa 20% (pH 6.8). Teknik pengkayaan dilakukan dengan memasukkan 10 g sample ke dalam 90 ml media diatas dan dilakukan pengocokan selama 3 hari pada suhu 30°C. Isolasi dilakukan dengan plate count methods dan dilakukan ulangan sebanyak 3 kali dengan menggunakan media Yeast Malt Extract agar (YME agar) dengan komposisi sebagai berikut : yeast extract 0.3%, glukosa 1.0%, malt extract 0.3%, bacto peptone 0.5% agar, 1.5% dan streptomycin 100 U/L pH 3.7. Kultivasi dari isolat dilakukan pada suhu 25°C selama 3 hari.

Pemurnian

Khamir yang didapat, dimurnikan dengan cara menanam pada media YME agar (pH 6.8), diikuti dengan inkubasi pada suhu 25°C selama 48 jam. Koloni yang terpisah dengan baik dipilih dan ditanam kembali pada media yang sama sebanyak dua kali ulangan. Setelah berumur 2 hari koloni yang didapat diamati dengan menggunakan mikroskop untuk pengamatan morfologi.

Identifikasi khamir.

Khamir yang telah diisolasi diidentifikasi berdasarkan pada beberapa karakter yang meliputi : reproduksi vegetatif, karakterisasi seksual, karakterisasi fisiologi dan biokimia Barnett & Pankhurst. (1990) dan Kurtzman & Jack (1998). Morfologi dari sel vegetatif dianalisa berdasarkan Hawksworth *et al.* (1995). Karakterisasi dari reproduksi vegetatif dianalisis berdasarkan Kurtzman & Jack (1998). Karakterisasi fisiologi dan biokimia dianalisa berdasarkan Barnett & Pankhurst. (1990) dan Kurtzman & Jack

(1998). Data fenotipik yang meliputi karakterisasi morfologi dan fisiologi dianalisa dengan menggunakan sistem pengelompokan program NTSYS 1.80 software (Rohlf, 1993) yang didasarkan pada kesamaan karakter morfologi dan fisiologi antara isolat-isolat yang diteliti.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tiap macam tanah conto memiliki populasi khamir yang berbeda (Tabel 1). Ini menunjukkan keragaman jenis khamir yang berbeda pada setiap macam tanah conto. Selain khamir, keberadaan jamur tanah dan bakteri aerob juga cukup dominan pada beberapa jenis tanah conto. Jamur tanah banyak terdapat pada tanah conto dengan partikel kapur, melebihi populasi khamir, yaitu sekitar 30.0×10^4 sel/g tanah. Pada tanah conto yang didominasi oleh tumbuhan munika, baik jamur maupun khamir tidak berhasil diisolasi, tanah tersebut didominasi oleh bakteri aerob yaitu sekitar 26.0×10^3 sel/g tanah.

Kandungan khamir yang paling tinggi yang berhasil diisolasi dari 10 macam tanah conto bervariasi antara 30.0×10^2 sampai 16.5×10^6 sel/g tanah. Populasi khamir terbesar ditemukan pada macam tanah conto berwarna hitam (16.5×10^6 sel/g tanah), sedangkan kandungan khamir terkecil berasal dari tanah conto yang didominasi oleh tumbuhan duaga 30.0×10^2 sel/g tanah. Dari sebelas macam tanah conto yang diteliti, hanya sembilan yang mengandung khamir. Setelah dilakukan karakterisasi umum yang menjadi dasar identifikasi khamir, maka dari 50 isolat yang didapat, dipilih 15 isolat yang mewakili setiap macam tanah conto untuk diidentifikasi berdasar-

kan karakteristik morfologi dan fisiologi yang meliputi bentuk sel khamir, jenis perkembangbiakan dan bentuk morfologi ascospora. Juga karakteristik fisiologi meliputi kemampuan khamir untuk melakukan fermentasi dan asimilasi pada berbagai macam sumber karbon dan nitrogen.

Berdasarkan karakter morfologi dan fisiologinya dapat digolongkan ke dalam tiga kelompok. Kelompok pertama terdiri dari sebelas isolat yaitu satu isolat khamir dari tanah conto yang didominasi tumbuhan duaga (1.Ir.td), dua isolat dari tanah conto berwarna merah (2.Ir.tm, 3.Ir.tm), tiga isolat dari tanah conto berwarna coklat (4.Ir.tc, 5.Ir.tc, 6.Ir.tc), satu isolat dari tanah conto berwarna kuning (7.Ir.tk), dua isolat dari tanah conto berwarna merah kuning (8.Ir.mk, 9.Ir.mk), satu isolat dari tanah conto berwarna abu-abu (10.Ir.ab) dan satu isolat diisolasi dari tanah conto yang didominasi oleh tumbuhan Seno (16.Ir.se). Kelompok kedua terdiri dari 3 isolat yang masing-masing dari tanah conto berwarna hitam (13.Ir.th) dan tanah conto yang didominasi oleh tumbuhan wiep (14.Ir.wi, 15.Ir.wi). Satu isolat merupakan anggota dari kelompok ketiga yang diisolasi dari tanah conto berwarna hitam (12.Ir.th).

Karakteristik morfologi dari 15 isolat yang berhasil diisolasi seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2. menunjukkan bahwa morfologi sel khamir bervariasi dari bentuk globose kecil, globose sedang, subglobose dan elips. Pengamatan penampakan morfologi khamir yang ditumbuhkan pada media YME pada suhu 25° C selama 2 minggu memperlihatkan bahwa ke-15 isolat tidak memproduksi pigmen. Warna dan penampakan permukaan sel khamir bervariasi dari warna putih buram dan krem dengan

kusam dan mengkilap. Berdasarkan pengamatan pembentukan ascospora selama siklus hidup seksual khamir, semua isolat tidak mengalami pembentukan ascospora dan hanya melakukan perkembangbiakan dengan tahapan aseksual.

Karakteristik fisiologi 15 isolat yang diteliti diperlihatkan pada Tabel 3. Berdasarkan pada uji Dnase, urease dan Diazonium Blue Salt B (DBB), 14 isolat yang berasal dari kelompok satu dan tiga memberikan hasil positif, sedangkan 3 isolat dari kelompok dua memberikan hasil negatif.

Kelompok kesatu yang terdiri dari 11 isolat tidak mempunyai kemampuan untuk memfermentasikan glukosa dan galaktosa. Seluruh isolat dalam kelompok ini memberikan reaksi negatif pada proses asimilasi beberapa sumber karbon seperti inulin, starch, glycerol, methanol dan ethanol. Sebagian besar isolat mampu tumbuh dengan baik pada media dengan beberapa macam sumber karbon yang digunakan seperti galaktosa, sukrosa, maltosa, cellobiosa, laktosa, raffinosa, melezitosa dan sumber karbon yang lainnya (Tabel 3). Seluruh isolat yang diteliti memberikan reaksi negatif terhadap asimilasi nitrate sebagai salah satu sumber nitrogen. Sebelas isolat dapat mengasimilasi nitrite, L-lysine, glucosamine dan cadaverine sebagai sumber nitrogen.

Kelompok kedua terdiri dari 3 isolat. Sifat karakterisasi dari isolat-isolat tersebut dapat memfermentasikan glukosa, sebaliknya semua isolat dalam kelompok ini tidak dapat melakukan fermentasi dengan galaktosa sebagai sumber karbon. Semua isolat yang termasuk dalam kelompok ini menunjukkan reaksi negatif untuk asimilasi sumber karbon seperti

Kanti dan Latupapua

laktosa, inulin, starch, D-xylose, D-arabinosa, glycerol, erythritol, citrid acid, methanol dan ethanol. Isolat-isolat ini mampu menggunakan dengan baik beberapa sumber karbon untuk proses assimilasinya.

Sumber-sumber karbon tersebut diantaranya glukosa, galaktosa, sukrosa, maltosa dan L-arabinosa (Tabel 3). Ketiga isolat dalam kelompok ini tidak dapat tumbuh dengan baik bila ditumbuhkan pada media dengan nitrate dan nitrite sebagai satu-satunya sumber nitrogen, sebaliknya isolat-isolat tersebut dapat tumbuh dengan baik pada media dengan L-lysine, cadaverine dan glucosamine sebagai sumber nitrogen.

Kelompok ketiga terdiri dari 1 isolat yang mempunyai karakteristik fisiologi yang cukup unik jika dibandingkan dengan isolat-isolat dari kelompok lain. Karakteristik fisiologi yang ditunjukkan pada Tabel 3, menunjukkan bahwa isolat tersebut memberikan reaksi positif pada uji Dnase, urease dan DBB. Isolat yang diteliti tidak dapat melakukan proses fermentasikan glukosa dan galaktosa. Sedangkan pada proses asimilasi, isolat pada kelompok ini dapat tumbuh baik pada media dengan beberapa sumber karbon

yang diujikan, sedangkan pada sumber-sumber karbon seperti inulin, starch, L-arabinosa, D-arabinosa, glycerol, dulcitol, 2-ketogluconic acid dan DL-lactic acid isolat tersebut tidak dapat tumbuh dengan optimum. Dibandingkan dengan isolat-isolat yang berada dalam kelompok kesatu dan kedua, selama proses asimilasi isolat ini dapat menggunakan semua sumber nitrogen yang diujikan (nitrate, nitrite, L-lysine, cadaverine dan glucosamine).

Beberapa cara isolasi dengan teknik pengkayaan banyak diterapkan oleh beberapa peneliti (Wickerman, 1951; Kurtzman, 2000). Salah satu teknik yang penulis pergunakan pada penelitian ini adalah dengan melakukan penghambatan pertumbuhan bakteri dan jamur, dan menggunakan media isolasi yang kaya glukosa, yaitu sekitar 20% (Wickerman, 1951). Meskipun kadar glukosa cukup tinggi, ternyata beberapa jenis jamur tanah dan bakteri aerob dapat tumbuh. Hal ini mengindikasikan jasad renik tersebut mampu beradaptasi dengan kadar konsentrasi glukosa yang tinggi, dan mempunyai tekanan osmotik lebih tinggi dibandingkan dengan medium umum untuk pertumbuhan bakteri dan jamur. Jasad renik yang dicirikan oleh kemam-

Tabel 1. Populasi khamir tanah Kebun Biologi Wamena

Jenis sampel	Jumlah sel khamir/g tanah	Keterangan
Partikel kapur	30,0 X 10 ⁴	Populasi jamur cukup banyak
Tanah merah	10,7 X 10 ³	-
Tanah coklat	40,0 X 10 ⁵	-
Tanah kuning	35,0 X 10 ⁴	-
Tanah merah kuning	46,0 X 10 ³	-
Tanah abu-abu	4,0 X 10 ⁵	-
Tanah hitam	16,5 X 10 ⁶	-
Tanah Wiep	10,7 X 10 ⁶	-
Tanah Munika	-	Hanya ditemukan bakteri aerob
Tanah Seno	57,0 X 10 ⁵	-
Tanah Duaga	30,0 X 10 ²	-

Tabel 2. Karakterisasi morfologi khamir yang diisolasi dari Kebun Biologi Wamena

No. isolat	Asal	Karakteristik Morfologi	Pembentukan Ascospora	Grup
1.Ir. td.	Tanah Duaga	globose kecil	-	I
2.Ir. tm.	Tanah merah	globose kecil	-	I
3.Ir. tm.	Tanah merah	globose kecil	-	I
4.Ir. tc.	Tanah coklat	globose kecil	-	I
5.Ir. tc.	Tanah coklat	globose kecil	-	I
6.Ir. tc.	Tanah coklat	globose kecil	-	I
7.Ir. tk.	Tanah kuning	globose kecil	-	I
8.Ir. mk.	Tanah merah kuning	globose kecil	-	I
9.Ir. mk.	Tanah merah kuning	sub globose	-	I
10.Ir. ab.	Tanah abu-abu	globose kecil	-	I
13.Ir. th.	Tanah hitam	globose besar	-	II
14.Ir. wi.	Tanah Wiep	globose besar	-	II
15.Ir. wi.	Tanah Wiep	globose besar	-	II
12.Ir. th.	Tanah hitam	elips	-	III

puannya beradaptasi dengan tekanan osmotik tinggi dikategorikan dalam kelompok *osmotolerant microbe*.

Ada variasi populasi khamir dari tiap macam tanah (Tabel 1). Pada tanah yang didominasi oleh tumbuhan munika, baik jamur maupun khamir tanah tidak dapat diisolasi, tanah tersebut didominasi oleh bakteri aerob. Pada tanah contoh tersebut, kemungkinan kandungan populasi khamir sangat rendah, sehingga tidak dapat diisolasi dengan teknik isolasi konvensional. Populasi tertinggi pada tanah contoh berwarna hitam $16,5 \times 10^6$ sel per gram tanah mempertegas bahwa jumlah khamir di beberapa bagian Kebun Biologi Wamena yang tanahnya berwarna hitam tergolong tinggi. Alexander (1977) mengemukakan bahwa umumnya tanah di kawasan yang beriklim sedang mengandung khamir umumnya sekitar 10^3 sel per gram tanah.

Keberadaan khamir pada tanah dan daerah ekosistem sekitarnya sangat dipengaruhi oleh komposisi organik material yang terkandung dalam tanah

tersebut. Selain itu keanekaragaman mikroorganisme termasuk khamir juga sangat dipengaruhi oleh perbedaan cuaca iklim mikro (*microclimate*), kelembaban tanah dan faktor-faktor fisik yang lainnya.

Peran khamir dalam proses ekologi, tidak berbeda dengan bakteri dan jamur (Spencer, 1997). Khamir mempunyai peranan penting dalam proses perombakan polisakarida, protein dan lemak ke dalam bentuk yang lebih sederhana dan akhirnya perombakan tersebut menghasilkan beberapa asam organik atau senyawa yang lain. Beberapa jenis khamir dilaporkan mempunyai kemampuan menghasilkan enzim selulase atau chitinase yang berperan dalam proses pelapukan bahan organik yang mempunyai berat molekul tinggi (Tanaka *et al.*, 1990).

Khamir yang hidup di alam membutuhkan sumber karbon dan energi dalam bentuk molekul yang sederhana (Anna, 1990). Dalam siklus biogeokimia, khamir menggunakan bentuk molekul sederhana yang merupakan hasil perombakan beberapa senyawa organik

Tabel 3. Fisiologi karakteristik isolat khamir Kebun Biologi Wamena, Papua

Karakt.fisiologi	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	16.
	Ir.td.	Ir.tm.	Ir.tm	Ir.tc.	Ir.tc.	Ir.tc.	Ir.tk.	Ir.mk.	Ir.mk.	Ir.ab.	Ir.se.
Ascospora	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DBB tes	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dnase tes	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Urease tes	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fermentasi											
glukosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
galaktosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Asimilasi											
glukosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
galaktosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
sukrosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
maltosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
cellobiosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
laktosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
mellibiosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
raffinosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
melezitosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
inulin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
starch	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-xylosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-arabinosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-arabinosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-rhamnosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
glycerol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
erytritol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
dulcitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2-ketogluconic	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-L, lactic acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
succinic acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
citric acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-glucuronic	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
xylitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
methanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ethanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
nitrat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
nitrit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-lysine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
glucosamin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
cadaverin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabel 3 (lanjutan)

Karakt.fisiologi	13. Ir.th.	14. Ir.wi.	15. Ir.wi.	12. Ir.th.	LIPIMC 415	JCM 5912	TUA 0960	JCM 1604
Ascospora	-	-	-	-	+	+	-	-
DBB tes	-	-	-	+	-	-	+	-
Dnase tes	-	-	-	+	-	-	+	-
Urease tes	-	-	-	+	-	-	+	-
Fermentasi								
glukosa	+	+	+	-	+	-	-	-
galaktosa	-	-	-	-	-	+	+	+
Asimilasi								
glukosa	+	+	+	+	+	+	+	+
galaktosa	+	+	+	+	+	-	+	+
sukrosa	+	+	+	+	-	-	+	-
maltosa	+	+	+	+	-	-	-	-
cellobiosa	+	+	+	+	-	+	-	-
laktosa	-	-	-	+	-	-	-	-
mellibiosa	+	+	+	+	-	-	-	-
raffinosa	+	+	+	+	+	+	+	-
melezitosa	+	+	+	+	-	-	-	-
inulin	-	-	-	-	-	+	-	-
starch	-	-	-	-	-	+	+	-
D-xylosa	-	-	-	+	-	+	+	-
L-arabinosa	+	+	+	-	-	+	-	-
D-arabinosa	-	-	-	-	-	+	-	-
L-rhamnosa	+	+	+	+	+	+	+	-
glycerol	-	-	-	-	+	+	-	+
erytritol	-	-	-	+	-	+	-	-
dulcitol	+	+	+	-	-	-	-	-
D-mannitol	+	+	+	+	-	+	-	+
2-ketogluconic	+	+	+	-	-	+	-	-
D-L, lactic acid	+	+	+	-	-	-	+	+
succinic acid	+	+	+	-	-	+	-	+
citric acid	-	-	-	-	-	-	-	+
D-glucuronic	+	+	+	+	-	-	-	-
xylitol	+	+	+	+	-	+	-	-
methanol	-	-	-	-	-	-	-	-
ethanol	-	-	-	-	-	-	-	-
nitrat	-	-	-	+	+	-	-	-
nitrit	-	-	-	+	-	-	-	-
L-lysine	+	+	+	+	-	-	-	+
glucosamin	+	+	+	+	-	-	-	+
cadaverin	+	+	+	+	-	-	-	-

DBB: Diazoium blue test; LIPI MC: LIPI Microbial culture collection; JCM: Japan Collection for Microorganism; TUA: Tokyo University of Agriculture Culture Collection

Kanti dan Latupapua

yang dilakukan oleh bakteri dan jamur tanah.

Seluruh isolat yang diisolasi dari tanah di Kebun Biologi Wamena, berdasarkan karakterisasi morfologi dan fisiologi dibagi dalam 3 kelompok. Empat belas isolat yang termasuk dalam kelompok 1 dan 2 merupakan anggota dari kelompok khamir imperfect, yaitu khamir yang tidak membentuk ascospora atau basidiospora selama siklus hidup seksualnya. Khamir dalam kelompok ini melakukan perkembangbiakan dengan cara aseksual yaitu dengan pembentukan tunas (budding).

Karakteristik morfologi yang merupakan salah satu kunci untuk mengelompokkan khamir dalam kelompok seksual (perfect) atau aseksual (imperfect) khamir adalah dengan melakukan pengamatan ascospora dan basidiospora. Seluruh isolat khamir dalam kelompok ini tidak membentuk baik ascospora maupun basidiospora selama siklus hidupnya. Seperti yang dilaporkan oleh Barnett & Pankhurst. (1990), Hamamoto *et al.* (1998) dan Kurtzman & Jack (1998) bahwa pengamatan pembentukan ascospora dapat digunakan secara efektif untuk membedakan khamir yang melakukan siklus seksual dan yang tidak melakukan siklus seksual selama masa perkembangbiakannya.

Karakteristik fisiologi yang lainnya yang juga merupakan salah satu uji yang membedakan antara "imperfect" ascomycetous dan basidiomycetous khamir adalah uji Dnase, urease dan DBB. Isolat khamir dalam kelompok 1 dan 3 memberikan hasil positif untuk ketiga jenis pengujian diatas, dan dapat diasumsikan bahwa isolat-isolat diatas termasuk dalam kelompok basidiomycetous khamir. Penelitian yang dilakukan

oleh Kurtzman & Jack (1998) dan Sugita *et al.* (1997) menyatakan bahwa adanya perbedaan dinding stuktur dinding sel antara kedua kelompok khamir itu menjadi penanda yang sangat membantu dalam proses identifikasi khamir dengan menggunakan uji DBB. Basidiomycetous karena stuktur dinding selnya yang khas akan memberikan reaksi warna merah tua bila diuji dengan larutan buffer Diazonium Blue Salt B.

Berdasarkan karakter spesifik yang dimiliki oleh kelompok satu, diantaranya kemampuan untuk mengasimilasi glucuronate, dan nitrite serta karakter yang lainnnya, maka isolat-isolat dalam kelompok ini dapat diidentifikasi pada tingkat marga sebagai *Cryptococcus* sp. Diversitas khamir pada kelompok satu tidak terlalu tinggi, hal ini terlihat jelas dari 10 macam tanah conto dengan penampakan yang berbeda hanya berhasil diisolasi dan diidentifikasi 1 jenis khamir yang dominan.

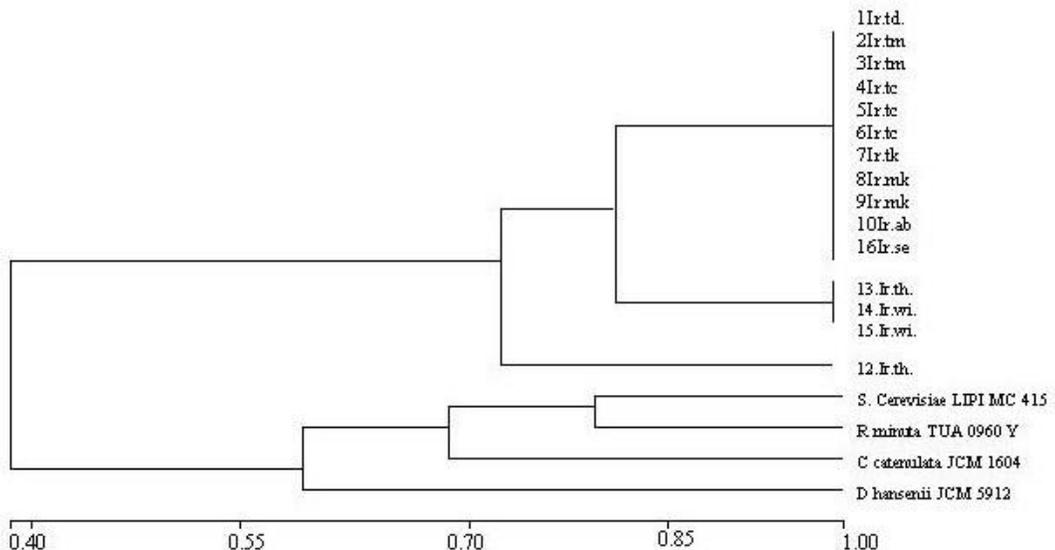
Seluruh isolat yang termasuk ke dalam kelompok dua berdasarkan karakteristik fenotipik dapat digolongkan ke dalam imperfect khamir, dan masuk ke dalam ascomycetous khamir. Meskipun termasuk ke dalam kelompok yang sama dengan isolat dalam kelompok satu, akan tetapi karena karakteristik fisiologi yang cukup berbeda, dapat diasumsikan bahwa isolat-isolat tersebut berada dalam marga yang berbeda. Berdasarkan karakteristik phenotypic isolat-isolat yang termasuk ke dalam kelompok dua dapat diidentifikasi pada tingkat marga sebagai *Candida* sp. Marga *Candida* merupakan marga khamir yang paling besar, dan meliputi hampir 1/3 dari seluruh jenis khamir yang sudah teridentifikasi. Berdasarkan beberapa penelitian terdahulu yang dilakukan oleh (Cook, 1958; Nakase &

Komagata, 1971; Buzzini & Alexandro, 2000; Kurtzman, 2000) yang menyatakan bahwa *Candida* sp. merupakan salah satu marga khamir yang biasa ditemukan pada tanah.

Satu isolat yang termasuk dalam kelompok 3 digolongkan dalam basidiomycetous khamir yang dicirikan dengan reaksi positif pada uji Dnase, urease dan DBB. Berdasarkan hasil yang disajikan pada tabel 3, diasumsikan bahwa isolat ini digolongkan dalam asexual

basidiomycetous khamir dan diidentifikasi sebagai *Cryptococcus albidus*.

Gambar 1 memperlihatkan dendrogram pengelompokan khamir berdasarkan fenotipik karakteristik, dan data diolah dengan menggunakan NTSYS 1.80 software (Rohlf, 1993). Berdasarkan hasil tersebut jelas terlihat pengelompokan dan dari isolat-isolat yang diteliti tidak ada yang mempunyai kesamaan karakter fenotipik dengan biak acuan yang dipakai.



Gambar 1. Dendrogram khamir yang diisolasi dari Kebun Wamena, Papua.

KESIMPULAN

Tanah di Kebun Biologi Wamena mengandung khamir yang sedikit bervariasi dalam populasi dan jenis. Diversitas khamir pada tanah contoh dari Kebun Biologi Wamena tidak terlampaui banyak namun memperlihatkan jenis-jenis yang cirinya khas. Dua marga utama yang sering dijumpai di sebagian besar tanah di Kebun Biologi Wamena adalah *Candida*

dan *Cryptococcus* dengan satu jenis yang teridentifikasi adalah *Cryptococcus albidus*.

DAFTAR PUSTAKA

Alexander, M. 1977. *Introduction to Soil Microbiology*. John Wiley and Sons. New York. Santa Barbara, London, Sydney. Toronto. 467 h.

Kanti dan Latupapua

- Anna, K. 1990. *Yeast and yeast-like organism*. VCH Publisher. 157 h.
- Barnett, J. A. & R. J. Pankhurst. 1974. *A new Key to The Yeast*. American Elsevier Publishing Company, INC. New York. 21:154-164.
- Buzzini, P. & M. Alexandro. 2000. Biodiversity of killer activity in yeasts isolated from the Brazilian rain forest. *Canadian Journal of Microbiology* 46:607-611.
- Cook, A.H. 1958. *The Chemistry and Biology of Yeast*. Academic Press Inc. 368 h.
- Hamamoto, M, K. Takashi & N. Takashi. 1998. *Fellomyces ogawarensis* sp.nov. and *Fellomyces distylii* sp.nov., yeasts isolated from a plant in Japan. *International Journal of Systematic Bacteriology* 48:287-293.
- Hawksworth, D.L., P.M. Kirk, B.C. Sutton & D.N. Pegler. 1995. *Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi*, 8th edn. CAB International, Wallingford, UK. 616 h.
- Kirsop, B. E. & A. Doyle . 1991. *Maintenance of Microorganism and Cultured Cells. A Manual of laboratory methods*. Academic Press, Limited. 262 h.
- Kurtzman, C.P. & W.F. Jack. 1998. *The Yeast A Taxonomic Study*. Elsevier. New York. H. 77-102.
- Kurtzman, C.P. 2000. Three new ascomycetous yeasts from insect-associated arboreal habitats. *Canadian Journal of Microbiology* 46:50-58.
- Lanchance, A. & W. T. Starmer. 1998. *Yeasts and Ecology*. 275-300 h.
- Nakase, T. & K. Komagata. 1971. Significance of DNA Base Compositon in The Classification of Yeast Genus *Candida*. *Journal of General and Applied Microbiology* 17:259-279.
- Rohlf, F.J. 1993. NTSYS-pc, *Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System*. Version 1.80. Applied Biostatistics Inc., New York.
- Spencer, J. F. T. 1997. *Yeast in natural and Artificial Habitats*. Springer – Verlag, Berlin Heidelberg. 347 h.
- Sugita, T., T. Masako, H., Makiko, B. Paipan, & N. Takashi. 1997. *Bensingtonia sakaguchii* sp.nov. isolated from a leaf of *Bischofia javanica* in the Ogawara Islands. *Journal of General and Applied Microbiology* 43:231-235.
- Tanaka, T., M.T. Suzuki, N. Takashi, W. Daengsubha, M. Chaowsangket, P. Suyanandana, M. Watanabe, K. Ohno, T. Murayama, H. Iino & M. Kozaki. 1990. *Amylolytic Yeasts of Indonesian Koji-cake; Ragi*. Report in graduation work at Showa Women's University. 70-79 h.
- Wickerman, L.J. 1951. Taxonomy of yeasts. *Techn. Bull.* 1029, U.S. Department of Agriculture, Washington, D.C. 90-109 h.